

**УКРАЇНА****(19) UA (11) 78582 (13) U**
(51) МПК**A61K 31/33** (2006.01)**A61B 5/02** (2006.01)**G01N 33/49** (2006.01)**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ****(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: u 2012 10510	(72) Винахідник(и): Деміхова Надія Володимирівна (UA), Попов Сергій Віталійович (UA), Власенко Михайло Антонович (UA), Руденко Тетяна Миколаївна (UA), Сухонос Валентина Андріївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 05.09.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.03.2013	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.03.2013, Бюл.№ 6	(73) Власник(и): СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 (UA)

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙОВАНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ З ОЖИРІННЯМ**(57) Реферат:**

Спосіб диференційованого лікування хворих на артеріальну гіпертензію з ожирінням включає призначення периндоприлу в залежності від рівня концентрації фактора некрозу пухлин-α в сироватці крові, який визначають методом твердофазного імуноферментного аналізу.

**U
78582
UA**

Корисна модель належить до галузі медицини, зокрема до кардіології, і може бути використана у хворих на артеріальну гіпертензію з ожирінням.

Часто супутнім та провідним фактором ризику артеріальної гіпертензії (АГ) є ожиріння. У осіб з ожирінням імовірність розвитку АГ на 50 % вища, ніж у осіб з нормальною масою тіла. Ожиріння провокує прискорення розвитку факторів, які складають серцево-судинний ризик у цілому.

Патогенез АГ у осіб з ожирінням представляє багатокомпонентний процес, який включає в себе збільшення об'єму циркулюючої крові, вазоконстрикцію, гіперреактивність симпатичної та ренін-ангіотензин-альдостеронової систем, метаболічні порушення. Велику роль у патогенезі АГ, особливо ускладненій хронічною серцевою недостатністю, відіграє імунзапальна активація, опосередкована прозапальними цитокінами, серед яких фактор некрозу пухлин- α (ФНП- α). ФНП- α гальмує скоротливість міокарда, що може бути зумовлено блокуванням β -адренергічних сигналів, збільшенням вмісту оксиду азоту в серці чи змінами гомеостазу внутрішньоклітинного кальцію. ФНП- α може визивати структурні зміни в міокарді у пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю, такі як гіпертрофія кардіоміоцитів та інтерстиціальний фіброз. Крім того, ФНП- α сприяє апоптозу кардіоміоцитів, активує металопротеїнази й порушує експресію їх інгібіторів, сприяючи ремоделюванню серця. Тому актуальним залишається питання запровадження методів лікування в аспекті впливу на рівень ФНП- α у хворих на АГ з ожирінням.

Так, відомий спосіб діагностики серцево-судинних захворювань, ускладнених хронічною серцевою недостатністю, шляхом виявлення активності цитокинової ланки патогенезу, за яким визначають рівень прозапальних цитокінів (див. Tanner H. Cytokine activation and disease progression in patients with stable moderate chronic heart failure / H. Tanner, P. Mohacsi, G.A. Fuller-Bicer et al. // J. Heart Lung Transplant. - 2007. - № 26(6). - P. 622-629). В зазначеному джерелі демонструється значимість факторів імунного запалення, а саме цитокінів і ФНП- α в т.ч., в розвитку і прогресуванні хронічної серцевої недостатності. Відображено залежність клінічної активності, а саме функціонального класу серцевої недостатності, від концентрації ФНП- α в сироватці крові та інших цитокінів. Проте даний спосіб не висвітлює вплив інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) за схемою диференційованої терапії згідно з концентрацією цитокінів в сироватці крові, що є актуальним при АГ з ожирінням.

Найближчим аналогом способу лікування, що заявляється, є комбіноване використання інгібітору АПФ (периндоприлу) в залежності від показників діастолічної дисфункції лівого шлуночка серця на фоні загальноприйнятої схеми лікування (див. Cleland J.G. The perindopril in elderly people with chronic heart failure / J.G. Cleland, M. Tendera, J. Adamus et al. // Eur. Heart J. - 2006. - № 27(19). - P. 2338-2345. У зазначеному джерелі показаний позитивний вплив терапії периндоприлом на коронарний кровотік та покращення діастолічної функції лівого шлуночка серця. Проте зазначений спосіб охоплює тільки гемодинамічні показники, не висвітлює вплив на цитокинову ланку патогенеза захворювання, тому не вдається значно покращити клінічний стан хворих, скоротити термін їх стаціонарного лікування.

В основу корисної моделі поставлена задача створити спосіб лікування АГ з супутнім ожирінням в аспекті впливу на імунзапальну ланку шляхом використання інгібітору АПФ периндоприлу в стандартних схемах лікування в залежності від концентрації ФНП- α в сироватці крові таких хворих, що дозволить досягти покращення показників системної та внутрішньосерцевої гемодинаміки, покращити клінічний стан, скоротити терміни стаціонарного лікування, покращити якість життя пацієнтів, зменшуючи економічні збитки.

Поставлена задача вирішується тим, що в стандартних схемах гіпотензивної терапії при АГ та супутньому ожирінні, в залежності від концентрації ФНП- α в сироватці крові, призначається інгібітор АПФ периндоприл в дозі 4-8 мг на добу. При цьому концентрацію ФНП- α визначають кількісно у сироватці крові хворого, в інтервалі концентрації 20-2000 пг/мл, методом твердофазного імуоферментного аналізу із використанням пероксидази хрину зі стрептавідином як індикаторного ферменту.

Застосування способу, що заявляється, поряд з усіма суттєвими ознаками, включаючи відмінні, дозволяє зменшити виникнення гострих гемодинамічних порушень відразу після початку терапії, досягти регресу гіпертрофії лівого шлуночка та регресу ремоделювання крупних судин, зменшити частоту виникнення гострого та повторного інфаркту міокарда та цереброваскулярних ускладнень, позитивно вплинути на тривалість та якість життя хворих.

Препарат периндоприл використовується в формі таблеток - 4 мг та 8 мг. Цей препарат належить до групи інгібіторів АПФ довготривалої дії, якій пригнічує перетворення ангіотензину I в ангіотензин II, а також розпад брадикініну в кровеносних судинах як на системному, так і на тканинному рівнях. Периндоприл з успіхом використовують при лікуванні АГ та серцевої недостатності. Клінічна ефективність периндоприлу супроводжується доведеною 24-годинною

дією та самим високим (майже 100 %) коефіцієнтом TPR, що зумовлює прихильність або "комплаєнс", пацієнтів до лікування. Препарат, завдяки своїй ліпофільності, добре проникає до атеросклеротичної бляшки, попереджує розвиток атеросклерозу і виникнення гострих коронарних подій; завдяки пригніченню кінінази та здатності регулювати фібриноліз в судинах, використання периндоприлу сприяє значному зменшенню частоти гострих та повторних інфарктів та інсультів. Доведене попередження серцево-судинних ускладнень в рандомізованих багатоцентрових дослідженнях PROGRESS та EUROPA. Доведено, що доза призначення периндоприлу залежить від тяжкості стану хворого, а саме від стадії АГ, функціонального класу хронічної серцевої недостатності, ступеня вираженості порушення систолічної та діастолічної функцій міокарда лівого шлуночка серця, а також від рівня концентрації прозапальних цитокінів у сироватці крові (наприклад, ФНП- α) як показника активності ланки патогенезу АГ у хворих з ожирінням.

Спосіб здійснюють таким чином.

Хворих на АГ з ожирінням обстежують загальноклінічними, лабораторними та інструментальними методами. Функціональний клас супутньої хронічної серцевої недостатності визначають за класифікацією Нью-Йоркської Асоціації серця (NYHA) згідно з наявними клінічними ознаками.

З метою оцінки імунологічного статусу хворих на АГ з ожирінням визначають концентрацію прозапального цитокіну - ФНП- α , методом твердофазного імуоферментного аналізу з використанням наборів реактивів TNF- α ТОВ "Укрмедсервіс" (Донецьк).

Для визначення рівня ФНП- α 5 мл крові з кубітальної вени обстежених в скляних пробірках центрифугують зі швидкістю 2000 обертів за хвилину протягом 15 хвилин. Матеріал відбирають у пластикові пробірки та зберігають при температурі мінус 20 °С до проведення аналізу. Використовують набір реагентів ООО "Укрмедсервіс" (Донецьк) для кількісного визначення ФНП- α людини у сироватці крові в інтервалі концентрацій 20-2000 пг/мл. У наборі використовують твердофазний імуоферментний метод з використанням пероксидази хрину як індикаторного ферменту. Один тип моноклональних антитіл іммобілізують на внутрішній поверхні чашок планшетів для мікротитрування. Інший тип моноклональних антитіл до незалежного епігону молекули ФНП знаходиться у наборі у вигляді кон'югата з біотином. Індикаторним компонентом є кон'югат пероксидази хрину зі стрептавідином, який має високу спорідненість до біотину. Після інкубації та промивок до чашок вносять кон'югат пероксидази зі стрептавідином, знов інкубують, промивають, вносять субстрат та вимірюють активність пов'язаної пероксидази з використанням автоматичного фотометра для мікропланшетів. До чашок планшета А1-В1 вносять по 100 мкг буфера С (нульова проба), до чашок А2-А5 і В2-В5 вносять по 100 мкл стандартів ФНП. У комплекті поставки знаходяться 4 флакони стандартних взірців ФНП: А - 50 пг/мл; В - 250 пг/мл; С - 500 пг/мл; Д - 1000 пг/мл. До чашок мікропланшета, що залишилися, вносять досліджувані взірці у об'ємі 100 мкл та інкубують 1 годину при температурі +37 °С, постійно перемішуючи. Видаляють рідину з чашок та тричі промивають їх буфером В та один раз дистильованою водою (300 мл на одну чашку). Проводять нову аспірацію рідини та залишають. Вносять до кожної лунки по 100 мл розчину інших антитіл та інкубують 2 години при температурі +18 - +20 °С, постійно помішуючи. Видаляють рідину з чашок, тричі промивають їх буфером В та один раз дистильованою водою (300 мл на одну чашку). Проводять повну аспірацію рідини, яка залишилась. Розводять 1:10 необхідну для аналізу кількість кон'югату стрептавідину з пероксидазою хрину буфером С та вносять по 100 мл розчину до кожної чашки мікропланшета. Інкубують 30 хвилин при температурі +18 - +20 °С, постійно помішуючи. За 10-15 хвилин до закінчення інкубації готують розчин субстрату з барвником. Для цього змішують у рівних відношеннях розчини з маркіровкою "Субстрат" та "Реагент", враховуючи, що на один стрип потрібно 1,6 мл готового розчину. Готовий розчин є стабільним протягом 1 години після приготування. Видаляють рідину з чашок та тричі промивають їх буфером В (300 мкл на одну чашку). Проводять повну аспірацію рідини, яка залишилась. Двічі промивають чашки планшета дистильованою водою. Висушують планшет шляхом стукання по поверхні лабораторного стола, вкритого фільтрувальним папером. Вносять у всі лунки по 100 мкл розчину субстрату з барвником. Інкубують по 10-20 хвилин при кімнатній температурі у захищеному від сонячних променів місці та спостерігають появу забарвлення. Зупиняють реакцію додаванням 50 мкл розчину сірчаної кислоти до кожної лунки. Проводять облік результатів з використанням автоматизованого фотометра для мікропланшетів при довжині хвилі 450 нм, встановлюючи нульове поглинання на лунці зі стандартом 0. Концентрацію ФНП у взірцях визначають графічно за калібрувальною кривою "оптична густина-концентрація", використовуючи дані по концентраціях, в інтервалі концентрацій 20-2000 пг/мл, що вказані для розчинів стандартів.

В залежності від концентрації ФНП- α призначають різну добову дозу периндоприлу. Так, при концентрації менше 25 пг/мл периндоприл призначають в добовій дозі 4 мг один раз; при концентрації більше 25 пг/мл периндоприл призначають в добовій дозі 8 мг один раз.

Ефективність способу ілюструють наступні клінічні приклади.

5 В кардіологічному відділенні Сумського обласного клінічного госпіталю для інвалідів Вітчизняної війни були обстежені:

Приклад 1. Хворий Бондарев Іван Кирилович, 71 рік, історія хвороби № 47, госпіталізований з діагнозом: Гіпертонічна хвороба, II ступеня, II стадії., дуже високий ризик. ІХС. Атеросклеротичний кардіосклероз. СН II-А. ФК II. Ожиріння II ст.

10 II функціональний клас (ФК) ХСН був визначений за класифікацією Нью-Йоркської Асоціації серця (NYHA) згідно з наявними клінічними ознаками. На фоні загальноприйнятого клінічного, інструментального та лабораторного обстеження було проведено визначення рівня концентрації ФНП- α в сироватці крові на 1 та 18 добу лікування. Концентрація ФНП- α (пг/мл) на 1 добу склала 27,5 пг/мл, тобто більше ніж 25 пг/мл. В нормі цей показник дорівнює 0. Хворому 15 було призначено периндоприл в дозі 8 мг на добу. Після проведеного лікування, на 18 добу, концентрація ФНП- α в сироватці крові знизилася до 18,6 пг/мл. Таким чином, отримані результати лікування з використанням периндоприлу свідчать про зменшення концентрації прозапального цитокіну ФНП- α на 32,3 % у хворого 1, що асоціювалося з покращенням клінічного стану та нормалізацією цитокінової ланки патогенезу АГ з супутнім ожирінням.

20 Приклад 2. Хвора Павлова Надія Андріївна, 54 роки, історія хвороби № 211, діагноз: ІХС. Атеросклеротичний кардіосклероз. СН I ФК. ФК I. Вторинна артеріальна гіпертензія. Ожиріння II ст.

На фоні загальноприйнятого клінічного, інструментального та лабораторного обстеження було проведено визначення рівня концентрації ФНП- α в сироватці крові на 1 та 18 добу 25 лікування. Концентрація ФНП- α (пг/мл) на 1 добу склала 19,2 пг/мл, тобто менше ніж 25 пг/мл. Хворому було призначено периндоприл в дозі 4 мг на добу. Після проведеного лікування, на 18 добу, концентрація ФНП- α в сироватці крові знизилася до 13,8 пг/мл. Так, отримані результати лікування з використанням периндоприлу свідчать про зменшення концентрації прозапального цитокіну ФНП- α на 28,1 % у хворого 2, що асоціювалося з покращенням клінічного стану та 30 нормалізацією цитокінової ланки патогенезу АГ з супутнім ожирінням.

З наведених прикладів видно, що запропонований спосіб дозволяє підійти диференційовано до вибору антигіпертензивної терапії, враховуючи концентрацію прозапального цитокіну ФНП- α , покращити ефективність лікування хворих на АГ з ожирінням.

Таким чином, при підвищенні рівня ФНП- α у сироватці крові до 25 пг/мл при наявності АГ з 35 ожирінням рекомендовано призначення інгібітора АПФ периндоприлу в добовій дозі 4 мг, тоді як при підвищенні рівня ФНП- α вище 25 пг/мл рекомендованою є доза периндоприлу 8 мг на добу. Підтверджено ефективність периндоприлу відносно нормалізації цитокінової ланки патогенезу у хворих на АГ з ожирінням, що дозволяє досягти покращення клінічних і гемодинамічних ефектів та нормалізації цитокінової ланки патогенезу АГ при супутньому ожирінні. Метод підвищує 40 ефективність стандартних схем лікування, зменшує економічні витрати і може бути використаний у різних лікувальних закладах і в амбулаторних умовах.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

45 Спосіб диференційованого лікування хворих на артеріальну гіпертензію з ожирінням, що включає призначення інгібітору ангіотензинперетворюючого ферменту периндоприлу на фоні загальноприйнятої схеми терапії, який **відрізняється** тим, що периндоприл призначають в залежності від рівня концентрації фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α) в сироватці крові, який визначають кількісно в інтервалі концентрацій 20-2000 пг/мл, методом твердофазного 50 імуноферментного аналізу із використанням пероксидази хрону зі стрептавідином як індикаторного ферменту, причому при концентрації ФНП- α до 25 пг/мл доза периндоприлу становить 4 мг на добу, при підвищенні рівня ФНП- α вище за 25 пг/мл - 8 мг на добу.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601